·论著·

己糖胺生物合成通路在血管内皮炎症中的调控作用研究

陈伊静，许琪，刘忠典，覃玲巧，陈淑萍，唐薇婷，钟秋安*

530021 广西壮族自治区南宁市，广西医科大学公共卫生学院流行病学教研室
*通信作者：钟秋安，教授/博士生导师；E-mail：qazhong@gxmu.edu.cn

【摘要】 **背景** 动脉粥样硬化（AS）是心血管病主要的病理基础，以血管内皮炎症为主要特征，因而靶向炎症相关机制是防治 AS 的关键。**目的** 研究己糖胺生物合成通路（HBP）对黏附分子的影响及其在血管内皮炎症中的调控作用。**方法** 2022 年 8—12 月，将 24 只 SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠按体重以随机区组设计方法分为对照组、6- 重氮 -5- 氧代 -L- 正亮氨酸（DON）组、高脂饮食（HFD）组、HFD+DON 组。在给予小鼠高脂饮食和腹腔注射 DON 15 周后，收集小鼠的血清及主动脉组织。使用生化试剂盒检测干预前后小鼠的血脂水平，采用 HE 染色法检测主动脉根部的病理变化，并通过免疫荧光染色、ELISA 和蛋白质印迹法检测细胞间黏附分子 1（ICAM-1）和血管细胞黏附分子 1（VCAM-1）的表达水平。**结果** 干预 15 周后，与对照组相比，HFD 组 LDL-C、TC 水平显著性上升，而 HDL-C 显著降低（$P<0.05$）；HFD 组与 HFD+DON 组之间的血脂水平无变化。HE 染色结果显示，HFD 组血管内膜增厚，血管平滑肌形态异常，结构紊乱，并可见大量的泡沫细胞。HFD+DON 组的小鼠平滑肌细胞排列整齐，内皮细胞层连续，泡沫细胞数量明显减少，细胞间隙基本正常。免疫荧光染色、ELISA 和蛋白质印迹法结果均显示，与 HFD 组相比，HFD+DON 组的 ICAM-1、VCAM-1 蛋白表达下调。**结论** 抑制 HBP 具有下调黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 表达，改善血管内皮炎症的作用。

【关键词】 血管内皮炎症；己糖胺生物合成通路；细胞间黏附分子 1；血管细胞黏附分子 1；6- 重氮 -5- 氧代 -L- 正亮氨酸；小鼠

【中图分类号】 R 543 【文献标识码】 A DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2024.0057

The Regulatory Role of Hexosamine Biosynthesis Pathway in Vascular Endothelial Inflammation

*CHEN Yijing，XU Qi，LIU Zhongdian，QIN Lingqiao，CHEN Shuping，TANG Weiting，ZHONG Qiuan**

Department of Epidemiology，School of Public Health，Guangxi Medical University，Nanning 530021，China

**Corresponding author：ZHONG Qiuan，Professor/Doctoral supervisor；E-mail：qazhong@gxmu.edu.cn*

【Abstract】 **Background** Atherosclerosis（AS）is the main pathological basis of cardiovascular disease and is characterized by vascular endothelial inflammation，thus targeting inflammation-related mechanisms is the key to prevention and treatment of AS. **Objective** To investigate the effect of the hexosamine biosynthesis pathway（HBP）on adhesion molecules and its regulatory role in vascular endothelial inflammation. **Methods** From August to December 2022，24 SPF grade C57BL/6 female mice were divided into control group，DON group，HFD group，HFD+DON group according to randomized block design method using body weight stratification. Serum and aortic tissue from the mice were collected after 15 weeks of administration of high-fat diet and intraperitoneal injection of DON. The lipid levels of mice were detected using biochemical kits before and after intervention，pathological changes in the aortic root were detected by HE staining，and the expression levels of intercellular adhesion molecule-1（ICAM-1）and vascular cell adhesion molecule-1（VCAM-1）were detected by immunofluorescence staining，ELISA and Western blot. **Results** After 15 weeks of intervention，compared with the control group，the levels of LDL-C and TC were increased significantly in the HFD group，while HDL-C was reduced significantly（$P<0.05$）；There was no change in the lipid levels between the HFD group and the HFD+DON group. HE staining results showed that the vascular intima was thickened，the morphology of vascular smooth muscle was abnormal，the structure was disorganized，and a large

基金项目：国家自然科学基金资助项目（82060088）

引用本文：陈伊静，许琪，刘忠典，等. 己糖胺生物合成通路在血管内皮炎症中的调控作用研究［J］. 中国全科医学，2024. DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2024.0057.［Epub ahead of print］.［www.chinagp.net］

CHEN Y J，XU Q，LIU Z D，et al. The regulatory role of hexosamine biosynthesis pathway in vascular endothelial inflammation［J］. Chinese General Practice，2024.［Epub ahead of print］.

number of foam cells were seen in HFD group. The smooth muscle cells of mice were neatly aligned, the endothelial cell layer was continuous, the number of foam cells was reduced significantly, and the cell gap was normal basically in the HFD+DON group. The results of immunofluorescence staining, ELISA and Western blot showed that the expression of ICAM-1 and VCAM-1 was down-regulated in the HFD+DON group compared with the HFD group. **Conclusion** Inhibition of HBP can down-regulate the expression of ICAM-1 and VCAM-1, and play a role in improving vascular endothelial inflammation.

【Key words】 Vascular endothelial inflammation; Hexosamine biosynthetic pathway; Intercellular adhesion molecule-1; Vascular cell adhesion molecule-1; 6-diazo-5-oxo-L-norleucine; Mice

随着人口老龄化，我国心血管疾病的发病率快速上升，致死率仍高居榜首[1]。在高血脂[2-3]、高血糖[4]、高血压[5]等多种危险因素的作用下，血管内皮受损，从而提高了罹患动脉粥样硬化性心血管疾病的风险。受损的内皮细胞会分泌多种黏附分子，如细胞间黏附分子1（intercellular cell adhesion molecule-1，ICAM-1）、血管细胞黏附分子1（vasccular cell adhesion molecule-1，VCAM-1）[6]，进而增强白细胞通透性，促进血管壁泡沫细胞堆积，最终导致动脉粥样硬化（atherosclerosis，AS）炎症的发生、发展[7-8]。因此，调控黏附分子的表达可能是防治AS炎症的关键。

黏附分子ICAM-1和VCAM-1均属于免疫球蛋白超家族的跨膜蛋白，需要高度糖基化修饰后才可执行促炎功能[9-10]。在己糖胺生物合成通路（hexosamine biosynthesis pathway，HBP）关键酶的作用下，催化果糖-6-磷酸和谷氨酰胺形成葡糖胺-6-磷酸，最终生成糖基化主要原料供体即尿苷二磷酸-N-乙酰葡糖胺（UDP-GlcNAc）[11-13]。当能量需求激增时，HBP受到过度激活导致UDP-GlcNAc水平上升，从而增强糖基化效应[14-16]。此外，糖基化效应增强可上调ICAM-1、VCAM-1表达，促进炎症的发生、发展[17-18]。为此，揭示HBP调控黏附分子糖基化修饰可能对改善血管内皮炎症具有重要意义。

6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸（6-diazo-5-oxo-L-norleucine，DON）是一种谷氨酰胺拮抗剂，可竞争性结合HBP上的谷氨酰胺位点，降低UDP-GlcNAc水平[19-21]。体外实验证明，通过DON靶向谷氨酰胺代谢，抑制HBP可下调系膜细胞中VCAM-1的转录水平，改善血管内皮细胞炎症[22]。然而，体内实验验证HBP对血管内皮炎症的作用研究，迄今尚未见报道。因此，本研究拟从动物水平进一步探讨HBP对黏附分子的影响及其在血管内皮炎症中的调控作用，旨在为防治AS炎症提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验时间

2022年8—12月。

1.2 实验材料

1.2.1 实验动物与饲料：SPF级7周龄雌性C57BL/6小鼠24只，体质量14.3~17.9 g，小鼠（合格证号：SYXK桂2020-0004）购于广西医科大学实验动物中心，饲养于广西医科大学公共卫生学院动物饲养室，饲养室温度控制在20~26℃，相对湿度为40%~70%，12 h光照交替，喂养于独立通风笼具、自由采食饮水。高脂饲料（饲料配方：15%脂肪+1.25%胆固醇+0.5%胆盐+83.25%基础饲料）购于南通特洛菲饲料科技有限公司。实验通过广西医科大学实验动物伦理委员会审查（动物伦理审批号：202201191）。

1.2.2 主要试剂与仪器：DON（GLPBIO，货号：GC41224）；低密度脂蛋白胆固醇（low density lipoprotein cholesterol，LDL-C）、总胆固醇（total cholesterol，TC）、高密度脂蛋白胆固醇（high density lipoprotein cholesterol，HDL-C）试剂盒（南京建成生物工程研究所，货号分别为A113-1-1、A111-1-1、A112-1-1）；ICAM-1、VCAM-1酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（上海爱萌优宁生物技术有限公司，货号分别为LV30245M、LV30555M）；二喹啉甲酸（bicinchoninic acid，BCA）蛋白浓度测定试剂盒、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳凝胶快速配制试剂盒、放射免疫沉淀法（radio immunoprecipitation assay，RIPA）裂解液（Beyotime，货号分别为：P0010、P0012AC、P0013B）；苏木精-伊红（HE）染料（Servicebio，货号：G1003）。ICAM-1抗体、VCAM-1抗体（Abcam，货号分别为ab171123、ab134047）；β-actin（CST，货号：4970S）。

多功能酶标仪（ThermoFisher，型号：Multiskan GO）；石蜡切片机（Leica，型号：RM2016）；荧光显微镜（Nikon，型号：Eclipse C1）；智能凝胶成像系统（ThermoFisher，型号：iBright FL1000）；高速低温组织研磨仪（Servicebio，型号：KZ-Ⅲ-F）。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及给药：小鼠适应性饲养后，采用随机区组设计方法按体重分为对照组、DON组、高脂饮食（HFD）组、HFD+DON组，每组6只。对照组予以普通饲料、腹腔注射磷酸盐缓冲液（phosphate buffer

solution，PBS）（1 mg/kg，3 次 / 周）；DON 组予以普通饲料、腹腔注射 DON 溶液（1 mg/kg，3 次 / 周）；HFD 组予以高脂饲料、腹腔注射 PBS 溶液（1 mg/kg，3 次 / 周）；HFD+DON 组予以高脂饲料、腹腔注射 DON 溶液（1 mg/kg，3 次 / 周）。干预 15 周后，采用阿佛丁麻醉后眼球取血，将血液静置 2 h 后，3 000 rpm 离心 10 min，-20℃保存。采血结束后处死小鼠，用预冷的 PBS 及多聚甲醛进行全身灌流，直至肝脏由红色转为白色后即为灌洗完毕。取出主动脉组织放入多聚甲醛中固定 48 h 备用，另一部分主动脉组织置于无菌冻存管内，-20℃保存备用。

1.3.2 血清脂质水平测定：干预前与干预 15 周后，隔夜禁食不禁水，均采用颌下静脉采血法收集血液，取血液静置 2 h 后，3 000 rpm 离心 10 min，收集血清，检测 LDL-C、TC 及 HDL-C 的水平。

1.3.3 HE 染色：将 4% 多聚甲醛固定后的主动脉制作石蜡切片，切片依次放入二甲苯Ⅰ 20 min、二甲苯Ⅱ 20 min、无水乙醇Ⅰ 5 min、无水乙醇Ⅱ 5 min、75% 乙醇 5 min，冲洗。在脱蜡后，使用苏木素染液染色 3~5 min，冲洗，分化液分化，冲洗，返蓝液返蓝，冲洗。随后将切片依次入 85%、95% 乙醇中脱水各 5 min，再放入伊红染液中染色 5 min。伊红染色后，将切片依次放入无水乙醇Ⅰ 5 min、无水乙醇Ⅱ 5 min、无水乙醇Ⅲ 5 min、二甲苯Ⅰ 5 min、二甲苯Ⅱ 5 min，中性树胶进行封片处理。显微镜下镜检并采集图像。

1.3.4 免疫荧光染色和观察：将包埋好的标本用切片机切成石蜡切片，切片脱蜡至水后，进行抗原修复，随后自然冷却。为确保洗涤效果，将玻片置于 PBS（pH=7.4）中并于脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5 min。将切片甩干并使用组化笔在组织周围精准画出轮廓，滴加牛血清白蛋白进行封闭处理，封闭时间为 30 min。随后，加入预先配置的一抗，将切片平稳放置于湿盒内，于 4℃环境中孵育过夜。一抗孵育结束后，洗涤玻片。加对应的二抗，在避光室温条件下孵育 50 min。二抗孵育后，玻片洗涤，方法同上。随后加 4′，6- 二脒基 -2- 苯基吲哚染液，于避光室温下孵育 10 min。染色结束后，玻片再次洗涤，方法同上。加自发荧光淬灭剂 B 液，作用时间为 5 min，冲洗 10 min 并使用抗荧光淬灭封片剂进行封片处理。在避光环境下，荧光显微镜观察并采集图像。

1.3.5 ELISA 检测：收集小鼠血清样本，使用 ELISA 法检测小鼠血清 ICAM-1 和 VCAM-1 水平。实验步骤严格按照说明书进行操作。

1.3.6 Western blot 检测：收集小鼠主动脉组织样本，经研磨后，加入 RIPA 裂解液提取组织蛋白，采用 BCA 法检测蛋白质的浓度。加入蛋白上样缓冲液，电泳，转膜，随后将聚偏氟乙烯膜置于 5% 脱脂奶粉的封闭液中室温封闭 2 h。加入一抗 ICAM-1、VCAM-1 和 β-actin，于 4℃环境中孵育过夜，使用三羟甲基氨基甲烷缓冲液洗膜 3 次，每次 10 min。加入了相应的二抗，并在室温下的摇床上孵育 1 h，充分洗涤去多余二抗。使用智能凝胶成像系统对膜进行扫描，Image J 软件分析条带的灰度值，所有目的蛋白均用 β-actin 作为内参进行标准化处理。

1.4 统计学方法

采用 STATA 17.0、SPSS 25.0 软件进行统计分析。计量资料以（$\bar{x} \pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-t 检验，同组干预前后比较采用配对样本 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组小鼠血脂水平测定

干预前，4 组小鼠血清 LDL-C、TC、HDL-C 水平比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。干预 15 周后，4 组小鼠血清 LDL-C、TC、HDL-C 水平比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）；其中 HFD 组与 HFD+DON 组小鼠血清 LDL-C、TC 水平均高于对照组和 DON 组，HDL-C 水平低于对照组和 DON 组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。与干预前相比，4 组小鼠干预 15 周后血清

表 1 4 组小鼠血脂水平比较（$\bar{x} \pm s$，mmol/L）

Table 1 Comparison of blood lipid levels in 4 groups of mice

组别	只数	LDL-C				TC				HDL-C			
		干预前	干预 15 周后	$t_{配对}$值	P 值	干预前	干预 15 周后	$t_{配对}$值	P 值	干预前	干预 15 周后	$t_{配对}$值	P 值
对照组	6	0.096±0.002	0.624±0.183	7.101	0.000 9	0.149±0.011	2.421±0.617	7.528	0.001 7	3.183±0.489	1.979±0.358	6.036	0.001 8
DON 组	6	0.099±0.005	0.583±0.157	7.487	0.000 7	0.158±0.006	2.493±0.286	26.787	<0.001	2.593±0.820	1.812±0.351	2.131	0.100 1
HFD 组	6	0.095±0.002	2.522±0.747[ab]	7.208	0.000 4	0.149±0.015	5.149±1.838[ab]	5.419	0.005 6	2.929±0.929	0.283±0.190[ab]	5.220	0.006 4
HFD+DON 组	6	0.098±0.004	2.541±0.646[ab]	9.231	0.000 3	0.151±0.010	5.181±1.151[ab]	11.597	0.000 3	3.038±0.327	0.387±0.429[ab]	12.715	0.000 2
F 值		1.530	28.780			0.620	11.370			0.570	43.50		
P 值		0.235	<0.001			0.609	<0.001			0.640	<0.001		

注：LDL-C= 低密度脂蛋白胆固醇，TC= 总胆固醇，HDL-C= 高密度脂蛋白胆固醇；[a] 表示与对照组比较 $P<0.05$，[b] 表示与 DON 组比较 $P<0.05$。



LDL-C、TC 水平均升高，对照组、HFD 组、HFD+DON 组小鼠干预 15 周后血清 HDL-C 水平均降低，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 1。

2.2　4 组小鼠主动脉根部横截面 HE 染色结果

HE 染色结果显示，对照组与 DON 组小鼠主动脉平滑肌形态正常，排列整齐，内皮结构完整，未产生炎症（图 1A、1B）。HFD 组小鼠血管内膜增厚，血管平滑肌形态异常，排列散乱，结构紊乱，可见大量泡沫细胞（图 1C）。HFD+DON 组小鼠平滑肌细胞排列尚整齐，内皮细胞层连续，泡沫细胞数量明显减少，细胞间隙基本正常（图 1D）。

2.3　4 组小鼠主动脉根部横截面免疫荧光染色结果

免疫荧光染色结果显示，与对照组相比，DON 组小鼠主动脉根部横截面 ICAM-1、VCAM-1 表达无明显变化，HFD 组小鼠主动脉根部横截面 ICAM-1、VCAM-1 表达明显增多；与 HFD 组相比，HFD+DON 组小鼠主动脉根部横截面 ICAM-1、VCAM-1 表达有所减少，见图 2、3。

2.4　4 组小鼠血清黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 水平比较

4 组小鼠血清黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 水平比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）；其中，HFD+DON 组小鼠血清 ICAM-1 水平低于对照组、DON 组和 HFD 组，HFD 组小鼠血清 ICAM-1 水平高于 DON 组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；HFD+DON 组小鼠血清 VCAM-1 水平低于 DON 组和 HFD 组，HFD 组小鼠血清 VCAM-1 水平高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 2。

表 2　4 组小鼠血清黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 水平比较（$\bar{x} \pm s$，pg/mL）

Table 2　Comparison of serum adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in 4 groups of mice

组别	只数	ICAM-1	VCAM-1
对照组	6	1 778.618 ± 221.922	1 701.446 ± 451.229
DON 组	6	1 337.773 ± 302.284	1 786.358 ± 390.094
HFD 组	6	2 003.233 ± 763.840^{b}	2 269.460 ± 427.058^{a}
HFD+DON 组	6	826.039 ± 241.942^{abc}	1 326.899 ± 242.623^{bc}
F 值		7.760	5.069
P 值		0.003	0.011

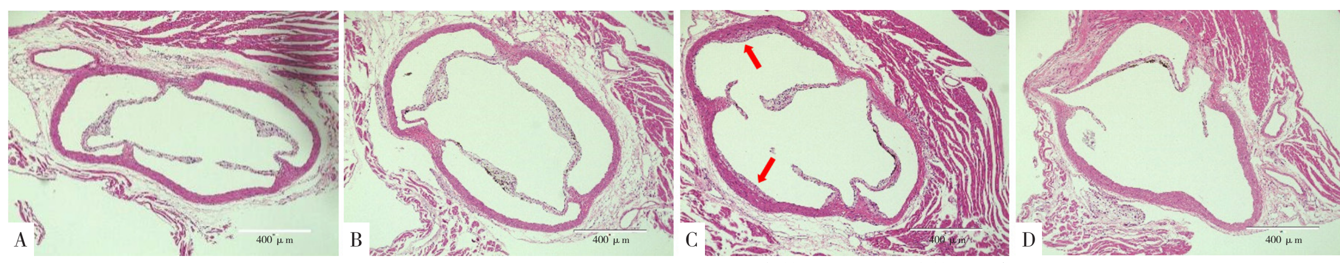
注：ICAM-1= 细胞间黏附分子 1，VCAM-1= 血管细胞黏附分子 1；^{a}表示与对照组比较 $P<0.05$，^{b}表示与 DON 组比较 $P<0.05$，^{c}表示与 HFD 组比较 $P<0.05$。

2.5　4 组小鼠主动脉组织 ICAM-1、VCAM-1 蛋白表达比较

4 组小鼠主动脉组织 ICAM-1 蛋白表达比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。4 组小鼠主动脉组织 VCAM-1 蛋白表达比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）；其中，HFD 组小鼠主动脉 VCAM-1 蛋白表达高于对照组、DON 组和 HFD+DON 组，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 3、图 4。

3　讨论

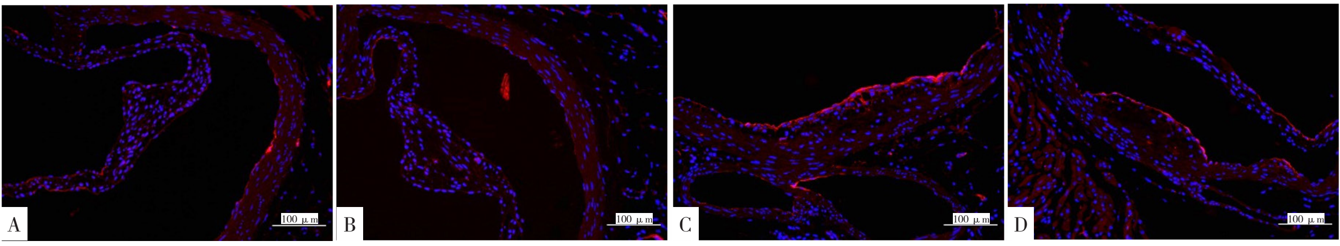
HBP 作为代谢通量的传感器，是糖基化修饰的前体[23-24]。糖基化终产物与其受体相互作用可触发细胞活化[25]。血管内皮细胞一旦被激活，可诱导黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 表达增加，使免疫细胞黏附并引起



注：A 为对照组，B 为 DON 组，C 为 HFD 组，D 为 HFD+DON 组；C 图中红色箭头表示主动脉管腔内存在泡沫细胞。

图 1　4 组小鼠主动脉根部 HE 染色（×100）

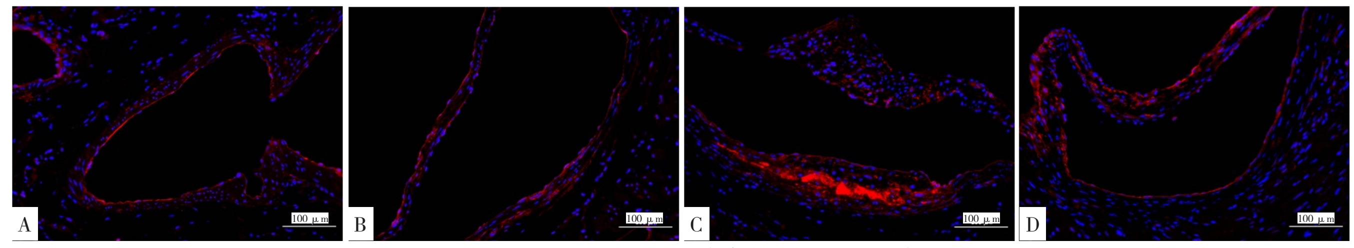
Figure 1　HE staining of aortic roots in 4 groups of mice



注：A 为对照组，B 为 DON 组，C 为 HFD 组，D 为 HFD+DON 组；红色高亮为 ICAM-1 染色阳性。

图 2　4 组小鼠主动脉根部横截面 ICAM-1 的表达（×200）

Figure 2　Expression of ICAM-1 in cross-section of aortic root in 4 groups of mice



注：A 为对照组，B 为 DON 组，C 为 HFD 组，D 为 HFD+DON 组；红色高亮为 VCAM-1 染色阳性。

图 3 4 组小鼠主动脉根部横截面 VCAM-1 的表达（×200）。

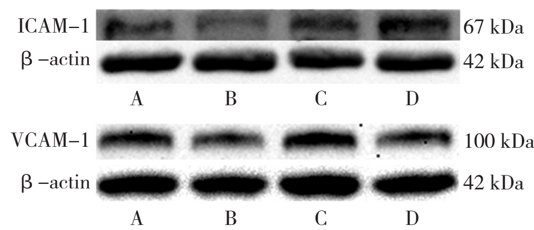
Figure 3 Expression of VCAM-1 in cross-section of aortic root in 4 groups of mice

表 3 4 组小鼠主动脉组织 ICAM-1、VCAM-1 蛋白表达比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 3 Comparison of protein expression of ICAM-1 and VCAM-1 in aortic tissues of the 4 groups of mice

组别	只数	ICAM-1	VCAM-1
对照组	3	1.000 ± 0	1.000 ± 0
DON 组	3	1.087 ± 0.428	0.759 ± 0.066
HFD 组	3	1.243 ± 0.272	1.325 ± 0.181[ab]
HFD+DON 组	3	1.158 ± 0.335	0.900 ± 0.105[c]
F 值		0.58	19.30
P 值		0.639	<0.001

注：[a] 表示与对照组比较 $P<0.05$，[b] 表示与 DON 组比较 $P<0.05$，[c] 表示与 HFD 组比较 $P<0.05$。



注：A 为对照组，B 为 DON 组，C 为 HFD 组，D 为 HFD+DON 组；ICAM-1= 细胞间黏附分子 1，VCAM-1= 血管细胞黏附分子 1。

图 4 4 组主动脉组织 ICAM-1、VCAM-1 蛋白表达情况

Figure 4 Protein expression of ICAM-1 and VCAM-1 in aortic tissues of the 4 groups

组织炎症[26]。因此，深入探讨 HBP 对血管内皮炎症的调控作用至关重要。有研究表明，肥胖症中脂肪细胞的肥大导致了谷氨酰胺水平的降低，进而改变了能量代谢和 HBP 活性，糖基化修饰水平上调，最终提高促炎基因的转录活性[27]。LIN 等[28]发现在 DON 处理人肺腺癌细胞下，抑制 HBP 可降低细胞内 UDP-GlcNAc 水平，降低糖基化效应。而 JAMES 等[22]进一步从细胞层面证明，抑制 HBP 关键酶活性可下调系膜细胞中 VCAM-1 的转录水平，改善细胞炎症。本研究以动物实验为基础，结果显示，HFD 诱导小鼠血管内膜发生炎症反应，抑制 HBP 可下调黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 的表达，表明 HBP 在改善血管内皮炎症方面发挥重要作用。

脂质代谢失调与血管内皮炎症并不相互独立，均可加速 AS 的进展[29-31]。血清 TC、LDL-C 和 HDL-C 水平是反映机体脂质代谢的主要指标[32]。YU 等[33]的研究表明，HFD 诱导脂质代谢失衡导致血清 LDL-C 和 TC 水平升高，HDL-C 水平降低，增强小鼠氧化应激及炎症损伤。本研究结果显示，干预 15 周后，HFD 组、HFD+DON 组的 LDL-C 和 TC 均高于对照组和 DON 组，HFD 组、HFD+DON 组的 HDL-C 均低于对照组和 DON 组，即高脂状态已形成，这与 WANG 等[34]研究结果一致，均说明 HFD 可诱导小鼠发生脂质代谢水平紊乱及炎症反应。同时，结果显示 DON 不改变血脂水平，说明抑制 HBP 抗血管内皮炎症的作用与改变血脂水平无关。

巨噬细胞中过度积聚胆固醇形成的泡沫细胞是 AS 的病理标志[35-36]。本研究结果发现，对照组与 DON 组平滑肌形态正常，结构完整，排列整齐，内皮结构完整，未见炎症。HFD 组血管内膜增厚，平滑肌细胞形态异常，结构紊乱，排列散乱，可见大量的泡沫细胞，存在炎性细胞的浸润。本研究与 VIKRAM[37]等的研究结果大致吻合，均提示 HFD 激活血管内膜炎症反应。HFD+DON 组小鼠主动脉异常结构改善，内皮细胞层连续，泡沫细胞明显减少。表明在正常状态下，抑制 HBP 不会改变血管形态，而当 HFD 诱导血管内膜发生炎症反应时，抑制 HBP 可发挥改善血管内皮炎症的作用。

AS 的早期发展阶段与血管内皮细胞的炎症变化密切相关，当内皮细胞受损时，ICAM-1、VCAM-1 和 E- 选择素等黏附分子被释放，诱导淋巴细胞和单核细胞浸润动脉壁进而促进炎症的发展[38-39]。此外，在早期 AS 斑块形成的过程中，糖基化修饰对黏附分子的识别和细胞间的相互作用具有重要影响[40]。研究表明，通过 DON 靶向谷氨酰胺代谢，抑制 HBP 可降低细胞内 UDP-GlcNAc 水平，进而影响细胞内的蛋白质糖基化修饰过程[41-42]。PARK 等[43]研究也发现，DON 可抑制生长因子刺激血管平滑肌细胞的增殖和迁移，改善 AS 再狭窄。本研究发现，血管内皮在正常状态下，DON 干预没有改变黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 表达。但是，在 HFD 诱导小鼠血管内膜发生炎症反应及上调黏附分子表达时，DON 干预后，小鼠血清中的 ICAM-1、VCAM-1 表达明显降低，动脉组织中的 ICAM-1、

VCAM-1 蛋白表达低于 HFD 组，同时，主动脉根部横截面免疫荧光染色法检测到 ICAM-1、VCAM-1 的阳性表达亦低于 HFD 组。以上结果提示在炎症状态下，抑制 HBP 可改善 HFD 诱导的小鼠血管内皮炎症。

综上所述，本研究从内皮促炎的内因，即 HBP 可调控黏附分子 ICAM-1 与 VCAM-1 的跨膜表达角度，运用体内实验验证 HBP 在改善血管内皮炎症中的调控作用，为防治心血管疾病早期病理进展提供新思路。然而，本研究未对与 HBP 关联的黏附分子糖基化代谢产物进行测定，因此，HBP 的调控作用是否与蛋白糖基化修饰有关，这需要在后续的工作中进一步研究。

作者贡献：陈伊静提出主要研究目标，负责研究的构思与设计，研究的实施，撰写论文；许琪、刘忠典进行数据的收集与整理，统计学处理，图、表的绘制与展示；陈伊静、陈淑萍负责实验指标的检测；覃玲巧、唐薇婷进行论文的修订；钟秋安负责文章的质量控制与审查，对文章整体负责，监督管理。

本文无利益冲突。

陈伊静 : https://orcid.org/0009-0004-3019-7585

参考文献

[1]《中国心血管健康与疾病报告 2022》编写组.《中国心血管健康与疾病报告 2022》要点解读[J].中国心血管杂志，2023，28（4）：297-312. DOI：10.3969/j.issn.1007-5410.2023.04.001.

[2] YAO T，LONG Q，LI J，et al. Small dense low-density lipoprotein cholesterol is strongly associated with NIHSS score and intracranial arterial calcification in acute ischemic stroke subjects[J]. Sci Rep，2020，10（1）：7645. DOI：10.1038/s41598-020-64715-9.

[3] 高丽君，齐晓勇，王秀萍，等.瑞舒伐他汀对颈动脉粥样硬化患者血脂和颈动脉斑块的影响[J].中国全科医学，2011，14（36）：4153-4156. DOI：10.3969/j.issn.1007-9572.2011.36.012.

[4] DURRER C，LEWIS N，WAN Z X，et al. Short-term low-carbohydrate high-fat diet in healthy young males renders the endothelium susceptible to hyperglycemia-induced damage，an exploratory analysis[J]. Nutrients，2019，11（3）：489. DOI：10.3390/nu11030489.

[5] ZHANG N J，ZHANG Y，WU B Q，et al. Role of WW domain E3 ubiquitin protein ligase 2 in modulating ubiquitination and Degradation of Septin 4 in oxidative stress endothelial injury[J]. Redox Biol，2020，30：101419. DOI：10.1016/j.redox.2019.101419.

[6] 苏敏，钟翠平.动脉粥样硬化病变中黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 及 E-selectin 的表达[J].第三军医大学学报，2009，31（11）：1066-1068. DOI：10.3321/j.issn:1000-5404.2009.11.020.

[7] WALLEZ Y，HUBER P. Endothelial adherens and tight junctions in vascular homeostasis，inflammation and angiogenesis[J]. Biochim Biophys Acta，2008，1778（3）：794-809. DOI：10.1016/j.bbamem.2007.09.003.

[8] ROM S，ZULUAGA-RAMIREZ V，DYKSTRA H，et al. Poly（ADP-ribose）polymerase-1 inhibition in brain endothelium protects the blood-brain barrier under physiologic and neuroinflammatory conditions[J]. J Cereb Blood Flow Metab，2015，35（1）：28-36. DOI：10.1038/jcbfm.2014.167.

[9] YANG J H，WANG T，JIN X X，et al. Roles of crosstalk between astrocytes and microglia in triggering neuroinflammation and brain edema formation in 1，2-dichloroethane-intoxicated mice[J]. Cells，2021，10（10）：2647. DOI：10.3390/cells10102647.

[10] HE P，SRIKRISHNA G，FREEZE H H. N-glycosylation deficiency reduces ICAM-1 induction and impairs inflammatory response[J]. Glycobiology，2014，24（4）：392-398. DOI：10.1093/glycob/cwu006.

[11] NARVAEZ C J，GREBENC D，BALINTH S，et al. Vitamin D regulation of HAS2，hyaluronan synthesis and metabolism in triple negative breast cancer cells[J]. J Steroid Biochem Mol Biol，2020，201：105688. DOI：10.1016/j.jsbmb.2020.105688.

[12] OIKARI S，MAKKONEN K，DEEN A J，et al. Hexosamine biosynthesis in keratinocytes：roles of GFAT and GNPDA enzymes in the maintenance of UDP-GlcNAc content and hyaluronan synthesis[J]. Glycobiology，2016，26（7）：710-722. DOI：10.1093/glycob/cww019.

[13] LUCENA M C，CARVALHO-CRUZ P，DONADIO J L，et al. Epithelial mesenchymal transition induces aberrant glycosylation through hexosamine biosynthetic pathway activation[J]. J Biol Chem，2016，291（25）：12917-12929. DOI：10.1074/jbc.M116.729236.

[14] MARSHALL S，NADEAU O，YAMASAKI K. Dynamic actions of glucose and glucosamine on hexosamine biosynthesis in isolated adipocytes：differential effects on glucosamine 6-phosphate，UDP-N-acetylglucosamine，and ATP levels[J]. J Biol Chem，2004，279（34）：35313-35319. DOI：10.1074/jbc.M404133200.

[15] TAPARRA K，WANG H L，MALEK R，et al. O-GlcNAcylation is required for mutant KRAS-induced lung tumorigenesis[J]. J Clin Invest，2018，128（11）：4924-4937. DOI：10.1172/JCI94844.

[16] PANEQUE A，FORTUS H，ZHENG J L，et al. The hexosamine biosynthesis pathway：regulation and function[J]. Genes，2023，14（4）：933. DOI：10.3390/genes14040933.

[17] SCOTT D W，PATEL R P. Endothelial heterogeneity and adhesion molecules N-glycosylation：implications in leukocyte trafficking in inflammation[J]. Glycobiology，2013，23（6）：622-633. DOI：10.1093/glycob/cwt014.

[18] SCOTT D W，DUNN T S，BALLESTAS M E，et al. Identification of a high-mannose ICAM-1 glycoform：effects of ICAM-1 hypoglycosylation on monocyte adhesion and outside in signaling[J]. Am J Physiol Cell Physiol，2013，305（2）：C228-237. DOI：10.1152/ajpcell.00116.2013.

[19] GUTIERREZ-AGUILAR R，GRAYSON B E，KIM D H，et al. CNS GNPDA2 does not control appetite，but regulates glucose homeostasis[J]. Front Nutr，2021，8：787470. DOI：10.3389/fnut.2021.787470.

[20] VAN SCHERPENZEEL M，CONTE F，BÜLL C，et al. Dynamic tracing of sugar metabolism reveals the mechanisms of action of synthetic sugar analogs[J]. Glycobiology，2022，32（3）：

239-250. DOI：10.1093/glycob/cwab106.
[21] THOMAS A G，ROJAS C，TANEGA C，et al. Kinetic characterization of ebselen，chelerythrine and apomorphine as glutaminase inhibitors［J］. Biochem Biophys Res Commun，2013，438（2）：243-248. DOI：10.1016/j.bbrc.2013.06.110.
[22] JAMES L R，TANG D M，INGRAM A，et al. Flux through the hexosamine pathway is a determinant of nuclear factor kappaB-dependent promoter activation［J］. Diabetes，2002，51（4）：1146-1156. DOI：10.2337/diabetes.51.4.1146.
[23] WELLS L，VOSSELLER K，HART G W. A role for N-acetylglucosamine as a nutrient sensor and mediator of insulin resistance［J］. Cell Mol Life Sci CMLS，2003，60（2）：222-228. DOI：10.1007/s000180300017.
[24] LOVE D C，HANOVER J A. The hexosamine signaling pathway：deciphering the "O-GlcNAc code"［J］. Sci STKE，2005，2005（312）：re13. DOI：10.1126/stke.3122005re13.
[25] BIERHAUS A，NAWROTH P P. Multiple levels of regulation determine the role of the receptor for AGE（RAGE）as common soil in inflammation，immune responses and diabetes mellitus and its complications［J］. Diabetologia，2009，52（11）：2251-2263. DOI：10.1007/s00125-009-1458-9.
[26] LIAO J K. Linking endothelial dysfunction with endothelial cell activation［J］. J Clin Invest，2013，123（2）：540-541. DOI：10.1172/JCI66843.
[27] LECOUTRE S，MAQDASY S，PETRUS P，et al. Glutamine metabolism in adipocytes：a bona fide epigenetic modulator of inflammation［J］. Adipocyte，2020，9（1）：620-625. DOI：10.1080/21623945.2020.1831825.
[28] LIN C H，LIAO C C，CHEN M Y，et al. Feedback regulation of O-GlcNAc transferase through translation control to maintain intracellular O-GlcNAc homeostasis［J］. Int J Mol Sci，2021，22（7）：3463. DOI：10.3390/ijms22073463.
[29] RYU H，KIM J，KIM D，et al. Cellular and molecular links between autoimmunity and lipid metabolism［J］. Mol Cells，2019，42（11）：747-754. DOI：10.14348/molcells.2019.0196.
[30] WANG M M，WANG Z Y，MIAO Y Y，et al. Diallyl trisulfide promotes placental angiogenesis by regulating lipid metabolism and alleviating inflammatory responses in obese pregnant mice［J］. Nutrients，2022，14（11）：2230. DOI：10.3390/nu14112230.
[31] CHEN L W，LIN C S，TSAI M C，et al. Pitavastatin exerts potent anti-inflammatory and immunomodulatory effects via the suppression of AP-1 signal transduction in human T cells［J］. Int J Mol Sci，2019，20（14）：3534. DOI：10.3390/ijms20143534.
[32] LIU J，SONG Y，ZHAO Q，et al. Effects of Tartary buckwheat protein on gut microbiome and plasma metabolite in rats with high-fat diet［J］. Foods，2021，10（10）：2457. DOI：10.3390/foods10102457.
[33] YU H，YI X Z，GAO X，et al. Tilapia-head chondroitin sulfate protects against nonalcoholic fatty liver disease via modulating the gut-liver axis in high-fat-diet-fed C57BL/6 mice［J］. Foods，2022，11（7）：922. DOI：10.3390/foods11070922.
[34] WANG Q Z，YUAN J，YU Z Y，et al. FGF21 attenuates high-fat diet-induced cognitive impairment via metabolic regulation and anti-inflammation of obese mice［J］. Mol Neurobiol，2018，55（6）：4702-4717. DOI：10.1007/s12035-017-0663-7.
[35] LIU J，HUAN C M，CHAKRABORTY M，et al. Macrophage sphingomyelin synthase 2 deficiency decreases atherosclerosis in mice［J］. Circ Res，2009，105（3）：295-303. DOI：10.1161/CIRCRESAHA.109.194613.
[36] HUANG K，LIU C S，PENG M X，et al. Glycoursodeoxycholic acid ameliorates atherosclerosis and alters gut microbiota in apolipoprotein E-deficient mice［J］. J Am Heart Assoc，2021，10（7）：e019820. DOI：10.1161/JAHA.120.019820.
[37] VIKRAM A，KIM Y R，KUMAR S，et al. Vascular microRNA-204 is remotely governed by the microbiome and impairs endothelium-dependent vasorelaxation by downregulating Sirtuin1［J］. Nat Commun，2016，7：12565. DOI：10.1038/ncomms12565.
[38] LIBBY P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes［J］. Circulation，2001，104（3）：365-372. DOI：10.1161/01.cir.104.3.365.
[39] JAN M，CUETO R，JIANG X H，et al. Molecular processes mediating hyperhomocysteinemia-induced metabolic reprogramming，redox regulation and growth inhibition in endothelial cells［J］. Redox Biol，2021，45：102018. DOI：10.1016/j.redox.2021.102018.
[40] AKINKUOLIE A O，BURING J E，RIDKER P M，et al. A novel protein glycan biomarker and future cardiovascular disease events［J］. J Am Heart Assoc，2014，3（5）：e001221. DOI：10.1161/JAHA.114.001221.
[41] YANG X Y，QIAN K. Protein O-GlcNAcylation：emerging mechanisms and functions［J］. Nat Rev Mol Cell Biol，2017，18（7）：452-465. DOI：10.1038/nrm.2017.22.
[42] ISHIKITA A，MATSUSHIMA S，IKEDA S，et al. GFAT2 mediates cardiac hypertrophy through HBP-O-GlcNAcylation-Akt pathway［J］. iScience，2021，24（12）：103517. DOI：10.1016/j.isci.2021.103517.
[43] PARK H Y，KIM M J，LEE S，et al. Inhibitory effect of a glutamine antagonist on proliferation and migration of VSMCs via simultaneous attenuation of glycolysis and oxidative phosphorylation［J］. Int J Mol Sci，2021，22（11）：5602. DOI：10.3390/ijms22115602.

（收稿日期：2024-03-19；修回日期：2024-05-07）
（本文编辑：康艳辉）